TOYOBO
Ideas & Chemistry

TOYOBO LIFE SCIENCE

UPLOAD

2014 September
VOL. 102

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR
→本誌p.1～4に詳細記事がございます。

HOT ITEM

1 リアルタイムPCR用細胞溶解&cDNA合成キット（培養細胞用）
SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR

TECHNICAL REVIEW

3 *SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCRを用いた
浮遊細胞の96ウェルプレートアッセイおよび
遺伝子発現解析の事例

5 高効率リアルタイムPCR用マスターミックス
「KOD SYBR® qPCR Mix」を用いた
次世代シーケンサー用ライブラリー定量の事例

7 「KOD FX Neo」を用いた
短鎖および長鎖ターゲットの
マルチプレックスPCRによる検出例

Brand-New item

9 ノロウイルス検出キット

NEW RELEASE

11 腸内細菌遺伝子検出キット－蛍光検出－

Q&A

13 リアルタイムPCR用細胞溶解&cDNA合成キット（培養細胞用）
SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR

INFORMATION

14 TESTSKIN™、MATREX™販売終了のご案内
14 クロスワードパズルについてのお詫び
14 ノロウイルス検出キット、腸内細菌遺伝子検出キット-蛍光検出-の
Label Licenseについて

PCRは東洋紡

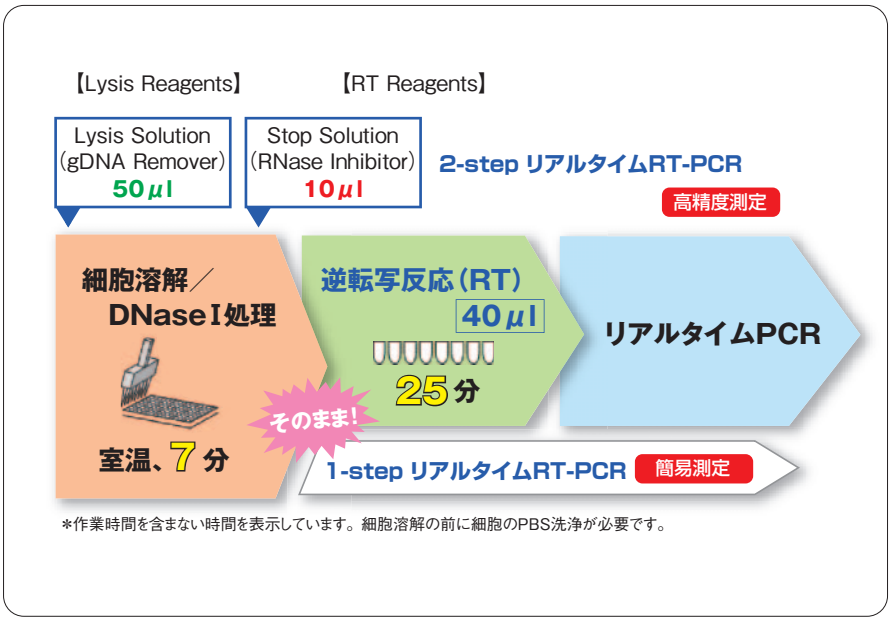
リアルタイムPCR用細胞溶解&cDNA合成キット（培養細胞用）

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR

哺乳類培養細胞から簡便・短時間にリアルタイムPCR用の鋳型cDNAの調製が可能です。

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR（Code:SCQ-101）は、リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析のための細胞溶解試薬（Lysis Reagents）と逆転写反応試薬（RT Reagents）からなるキットです。本製品をご使用いただくことで、96ウェルプレートなどで培養した細胞から、逆転写反応の鋳型として利用可能なRNAを含む細胞ライセートを簡便に調製することができます。さらに、本キットに含まれる逆転写反応試薬は、この細胞ライセートからのRT反応に最適化されています。本キットにより、簡便、迅速に培養細胞からリアルタイムPCR用の鋳型cDNAの合成が可能であり、ハイスループットアッセイに適しています。

SuperPrep® Cell Lysis Kit for qPCR（Code:SCQ-201）は、細胞溶解試薬（Lysis Reagents）の別売品です。1-stepリアルタイムRT-PCRによる簡易アッセイのための細胞ライセートの調製にご使用いただけます。



＊作業時間を含まない時間を表示しています。細胞溶解の前に細胞のPBS洗浄が必要です。

【Lysis Reagents】

- Lysis Solution
- Stop Solution
- gDNA Remover
- RNase Inhibitor

※Lysis Reagents の別売り品として、*SuperPrep*® Cell Lysis Kit for qPCR（Code No. SCQ-201）をご準備しております。

【RT Reagents】

- 5×RT Master Mix
- 5×RT Master Mix no-RT control *
- Nuclease free Water

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR（Code No. SCQ-101）
上の2種類の試薬セットを含みます。

＊逆転写酵素を含まないマスターミックスです。コントロールとして使用します。

特長1 RNA精製不要

・細胞をPBS（−）で洗浄後、Lysis Solution（gDNA Remover添加）を細胞に添加、懸濁し、室温で5分間インキュベートすることによって、細胞溶解とゲノムDNAの分解を同時に行います。反応停止はStop Solutionを添加して処理するのみで、熱処理は必要ありません。
・逆転写反応は、細胞ライセート（希釈不要）を加え、20分間インキュベートします。

特長2 ライセートから高品質なcDNAを合成

・最適化されたバッファー組成により、RNase等の細胞成分によるRNAの分解を効果的に抑えます（調製したRNAは氷上で2時間安定です）。また、DNase Ⅰ処理後にcDNA合成を行うことから、ゲノムDNAのコンタミの少ない高品質なcDNAを合成することができます。逆転写試薬は弊社の高効率逆転写酵素「ReverTra Ace®」をもとに最適化されたマスターミックスとなっており、簡便・高効率にcDNA合成を行うことができます。合成したcDNAは長期保存可能です。
・幅広い種類の細胞を用いて調製したライセートにも対応します。

特長3 ハイスループット解析のバラツキ低減

・プロトコールから少量の分注工程や希釈工程を減らすことで、ハイスループット解析におけるバラツキを低減しました。また、細胞溶解時のピペッティング操作を無くし、DNase Ⅰ 処理を並行して行うことで操作性を向上させました。DNase Ⅰの反応の停止はStop Solutionを加えるのみで、RNAを不安定化する加熱工程などは不要です。

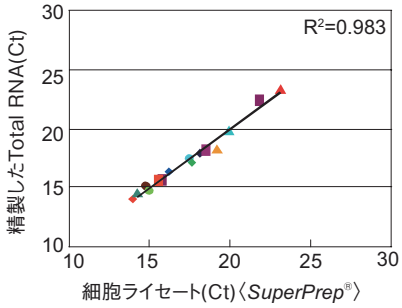
特長4 様々なリアルタイムPCR試薬に使用可能

・様々なリアルタイムPCR試薬(SYBR® Green Ⅰ、TaqMan®アッセイ両方に対応可能)と組み合わせて使用可能です。
また、弊社THUNDERBIRD® qPCR Mix (Code No. QPS-101、QPS-201)等と組み合わせて用いることによって、培養細胞から簡便かつ高精度の遺伝子発現解析が可能であることを確認しています。さらに、弊社*RNA-direct*™ Realtime PCR Master Mix(Code No. QRT-101、QRT-201)等の1-stepリアルタイムRT-PCR試薬と組み合わせる簡易アッセイも可能です。

実施例1 精製RNAと細胞ライセートでのCtの相関の検証

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCRを用いて、HEK293 細胞2.5×10^4cellsからcDNAを合成しました(40μl 反応系)。また、HEK293細胞から抽出したTotal RNA 66.6ngからReverTra Ace® qPCR RT Master Mix(Code No. FSQ-201)を用いてcDNA合成(40μl 反応系)を行いました。

その後、それぞれのcDNAを鋳型にTHUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No. QPS-201)を用いて15種類のハウスキーピング遺伝子についてリアルタイムPCRを行い、得られたCt値の相関性を検証しました。その結果、今回解析した15種類の遺伝子において、精製RNAと細胞ライセートを用いた解析に良好な相関が認められました。



実施例2 RNase活性が強い細胞における解析効率の検証

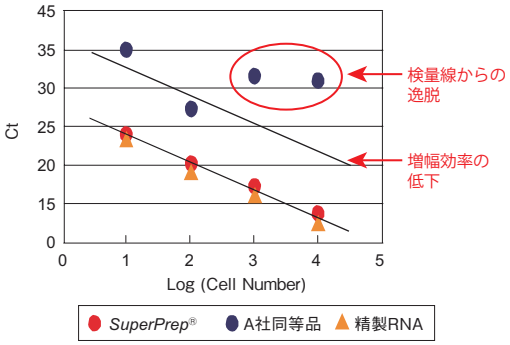
単球由来の細胞株U937は比較的RNaseの活性が高く、細胞溶解液を用いるアッセイは困難であるとされてきました。

本実験では、U937細胞1×10^4、1×10^3、1×10^2、1×10cellsから調製した細胞ライセート8μl を用いて cDNA合成(40μl 反応系)を行った後、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix(Code No.QPS-201)を用いて、β-actin遺伝子についてリアルタイム PCR を行いました。

同様に、A社同等品を用いて同様のアッセイを行いました(逆転写とリアルタイムPCR試薬もA社キット付属品を使用)。

また、同じサンプルから精製したTotal RNAの相当量を用いて解析を行いました(ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix[Code No.FSQ-201]、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix [Code No.QPS-201]使用)。

その結果、弊社品での解析においてのみ、精製RNAを用いた場合同様に高い直線性を示しました。



品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価 格
***SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR** 〈Lysis Reagents〉 〈RT Reagents〉 ・Lysis Solution ・5 x RT Master Mix ・Stop Solution ・5 x RT Master Mix no-RT control ・gDNA Remover ・Nuclease free Water ・RNase Inhibitor	100回用*1	-20℃	SCQ-101	¥76,000
	100回用×5	-20℃	SCQ-101X5	¥325,000
SuperPrep*®/THUNDERBIRD® Probe qPCR set3 ・*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR(SCQ-101)と THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix(QPS-101)*2とのセット	1セット	-20℃	SCQ101/ QPS101	¥99,500
SuperPrep*®/THUNDERBIRD® SYBR® qPCR set4 ・*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR(SCQ-101)と THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix(QPS-201)*2とのセット	1セット	-20℃	SCQ101/ QPS201	¥99,500
SuperPrep*® Cell Lysis Kit for qPCR5 ・Lysis Solution ・gDNA Remover ・Stop Solution ・RNase Inhibitor	100 回用	-20℃	SCQ-201	¥39,000

*1 40μlで逆転写反応をした場合に100回用としてご使用いただけます。
*2 50μl反応で 200回用、20μl反応で 500回用としてご使用いただけます。
*3 *SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR(100回用) [¥76,000 → ¥72,270]とTHUNDERBIRD® Probe qPCR Mix(Code No. QPS-101: 200回用) [¥29,000 → ¥27,230] とのセット販売品です。
*4 *SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR(100回用) [¥76,000 → ¥72,450]とTHUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix(Code No. QPS-201: 200回用) [¥29,000 → ¥27,230] とのセット販売品です。
*5 *SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR に含まれる Lysis Reagents の別売り品です。

*SYBR は、Life Technologies Corporationの登録商標です。TaqMan は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCRを用いた浮遊細胞の96ウェルプレートアッセイおよび遺伝子発現解析の事例

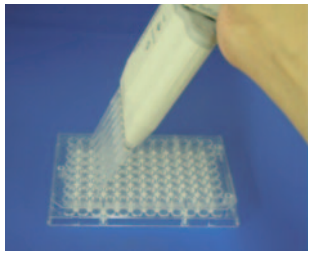
東洋紡（株）　敦賀バイオ研究所　山﨑 友実

はじめに

96ウェルプレートを用いるハイスループット遺伝子発現解析には多くは接着細胞が使用されますが、アッセイによっては浮遊細胞を対象としなければいけないケースもあります。しかし、浮遊細胞を96ウェルプレートでアッセイする場合、細胞のロスにより、精度が低くなるおそれがあります。そこで、今回、*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCRによるヒト単球由来浮遊系細胞株U937の細胞ライセート調製手技について検討を行いましたのでご紹介いたします。

方　法

（1）プレートアッセイにおける細胞洗浄方法の検討



・U937細胞を10%FBSを添加したRPMI 1640培地で希釈し、96ウェルプレートに、1×10^1、1×10^2、1×10^3、1×10^4、1×10^5cells/ウェルとなるよう、100μlずつ各3ウェルに播種したプレートを3枚用意しました。

・プレート遠心機で2,000rpm、5分間遠心し、それぞれ以下の3通りの方法で上清を除去しました。
①マルチチャンネルピペットの先を内側の壁底にあてて上清を除去（ピペット除去）
②プレートを下向きに傾けて上清を除去（デカンテーション）
③デカンテーションで上清を除去し、ペーパータオル上でプレートを下向きにたたき、完全に上清を除去（デカンテーション&タッピング）

・PBS（-）を100μl各ウェルに加え、プレート遠心機で2,000rpm、5分間遠心し、再び前記3種類の方法〈①②③〉で上清を除去しました。（PBS（-）を添加後、細胞をほぐす操作は省略しました）。

・*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR（Code No.SCQ-101）の標準プロトコールでcDNA合成を行いました。

・上記で合成したcDNAを使って、THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix（Code No.QPS-101）を用いてβ-actin遺伝子のTaqMan®アッセイによる測定を実施しました。

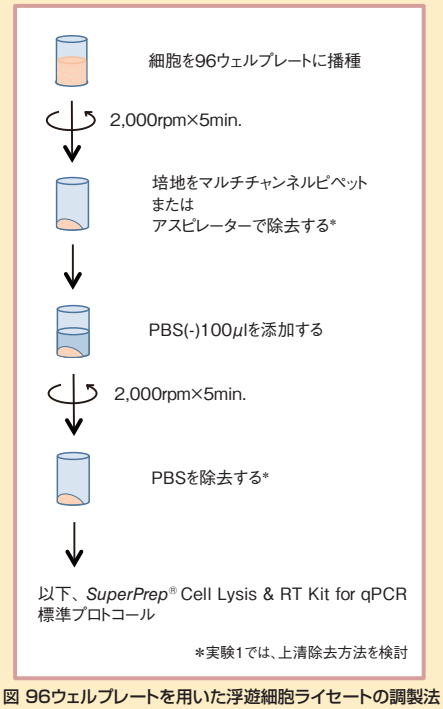


図 96ウェルプレートを用いた浮遊細胞ライセートの調製法

（2）浮遊細胞の96ウェルプレートアッセイ

・U937細胞を5×10^5 cells/mlになるように10% FBSを添加したRPMI 1640培地に懸濁し、96ウェルプレートに2mlずつ播種したのち、最終濃度0、0.01、0.1、1、10μMになるようにPhorbol 12-myristate 13-acetate（PMA）を加え、37℃、CO_2インキュベーターで6時間インキュベートしました。

・この細胞を96ウェルプレートに100μlずつ各3ウェルに分注しました（5×10^4cells/ウェル）。

・このプレートをプレート遠心機で2,000 rpm、5分間遠心し、マルチチャンネルピペットで上清を除去しました。

・PBS（-）を100μl各ウェルに加え、プレート遠心機で2,000rpm、5分間遠心し、同様に上清を除去しました（PBS（-）を添加後、細胞をほぐすような操作は省略しました）。

・*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR（Code No.SCQ-101）の標準プロトコールでcDNA合成を行いました。

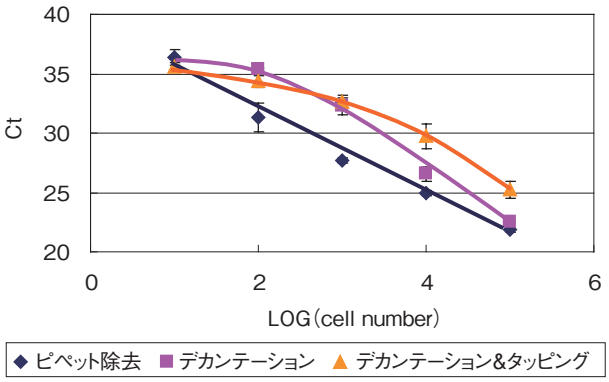
・上記で合成したcDNAを使って、THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix（Code No. QPS-101）を用いてβ-actin、IL-8、TNF遺伝子のTaqMan®アッセイによる測定を実施しました。

結果および考察

(1) プレートアッセイにおける細胞洗浄方法の検討

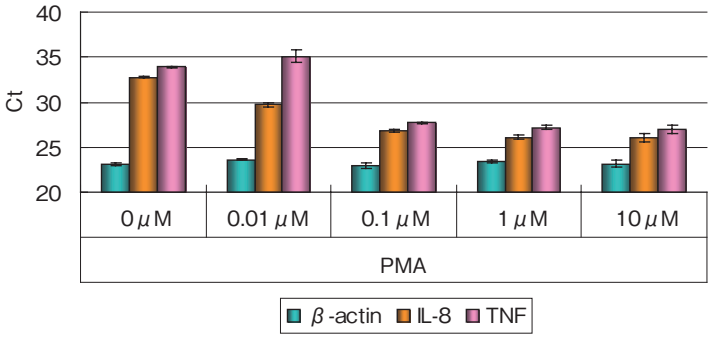
細胞洗浄のための上清除去の方法として、8連チャンネルピペットの先を内側の壁底につけるような形で静かに上清を除去した場合、細胞量とβ-actin遺伝子のCt値に高い直線性が認められました。一方、デカンテーションではピペットで除去した場合に比べ、Ct値の後退が認められ、細胞をロスしていると考えられます。

少し手間はかかりますが、ピペットで上清を除いていただくことで、精度の高いアッセイを行っていただけます。また、この作業はアスピレーターを用いる除去法も同様に使用可能であることを確かめています。



(2) 浮遊細胞の96ウェルプレートアッセイ

PMAで刺激したU937細胞を処理して、リアルタイムPCRを実施しました。この結果、インターナルコントロールとしたβ-actin遺伝子については、同一条件内、条件間でCt値の変動やバラツキはほとんどなく、一定に維持されていました。一方、ターゲット遺伝子としたIL-8、TNFについては、PMA濃度依存的な発現量の亢進を確認することができました。



		β-actin		IL-8		TNF	
		Ct	STDEV	Ct	STDEV	Ct	STDEV
PMA	0μM	23.07	0.18	32.76	0.03	33.91	0.06
	0.01μM	23.63	0.13	29.70	0.21	35.11	0.63
	0.1μM	22.94	0.31	26.83	0.11	27.69	0.04
	1μM	23.39	0.17	26.12	0.22	27.19	0.28
	10μM	23.15	0.41	26.02	0.42	27.02	0.45

(N=3)

まとめ

今回の検討から、浮遊細胞を用いた場合においても、プレート遠心機を用いることによりプレートフォーマットでの発現解析が可能であることが分かりました。ここで用いたU937細胞はRNase活性が強く、ライセートを用いる解析に向かないとされてきました。今回、そのU937細胞を用いてハイスループット解析を行い、正確にPMAに対する遺伝子の薬剤応答を解析できたことは本試薬システムの有用性を示すものであると考えられます。

本試薬は接着、浮遊に関わらず広範な細胞で解析可能であることを確認しています。是非一度、*SuperPrep*® Cell Lysis & RT Kit for qPCR (Code No.SCQ-101) をお試しください。

➡ 製品の詳細に関してはp1・2に、また、p13にQ&Aを掲載しておりますので、併せてご覧ください。

*TaqMan は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。

高効率リアルタイムPCR用マスターミックス「KOD SYBR® qPCR Mix」を用いた次世代シーケンサー用ライブラリー定量の事例

東洋紡（株）　敦賀バイオ研究所　永友 寛一郎

はじめに

近年急速に普及している次世代シーケンサー（NGS）解析において、ライブラリーの正確な定量は、適正なリード数を得るために非常に重要です。そこで、アダプターを付加したライブラリーの定量方法としてリアルタイムPCRが用いられています。しかし、インサートの平均サイズが200bp以上であるため、市販のリアルタイムPCR試薬を使用することができないという難点がありました。

KOD SYBR® qPCR Mixは、KOD DNA polymerase（KOD）を使用したSYBR® Green I 検出系によるリアルタイムPCR用マスターミックスです。3' →5' エキソヌクレアーゼ活性（校正活性）を除去したKOD exo (-) DNA polymeraseと最適化されたバッファー条件を組み合わせることで、KODの優れた合成能を最大限に発揮し、80%を超えるようなGCリッチなターゲットや長鎖ターゲット（～2kb）の定量的な増幅においても安定したリアルタイムPCR測定が可能になっています。

今回は、本キットを用いて、illumina® 社シーケンサー解析用にライブラリーの定量を行った例をご紹介いたします。

方　法

（1）ライブラリー調製

RNA-seq解析用ライブラリー A-Dは、哺乳類細胞 total RNAからTruSeq® Standard mRNAサンプル調製キット（illumina®社）を用いて調製しました。

（2）ライブラリーの定量

サンプル：スタンダードDNA [PhiX Control Kit v3（illumina®社, インサート長平均375bp）を希釈調製したもの] 及び（1）で調製したRNA-seq 解析用ライブラリー

プライマー配列：Primer #1:AAT GAT ACG GCG ACC ACC GAG AT（23bp）
Primer #2:CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA（21bp）

【反応組成】

DW	Xμl
KOD SYBR® qPCR Mix	10μl
10pmol/μl Primer #1	0.4μl
10pmol/μl Primer #2	0.4μl
50×ROX reference dye	0.04μl
スタンダードDNAまたはライブラリー*	Yμl
total	20μl

【PCRサイクル】

95℃, 10 min.
↓
(95℃, 10 sec. −60℃, 30 sec.) ×40cycles
↓
Melting

＊Data collectionは伸長ステップに設定しました。

＊スタンダードDNAは20pMから0.1%Tween20で段階希釈して用いました。ライブラリーはMultiNA（DNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置, 島津製作所）を用いて測定したDNA濃度を元に4pMに希釈調製してqPCRに用い、実際タグがついているものの濃度を測定しました。

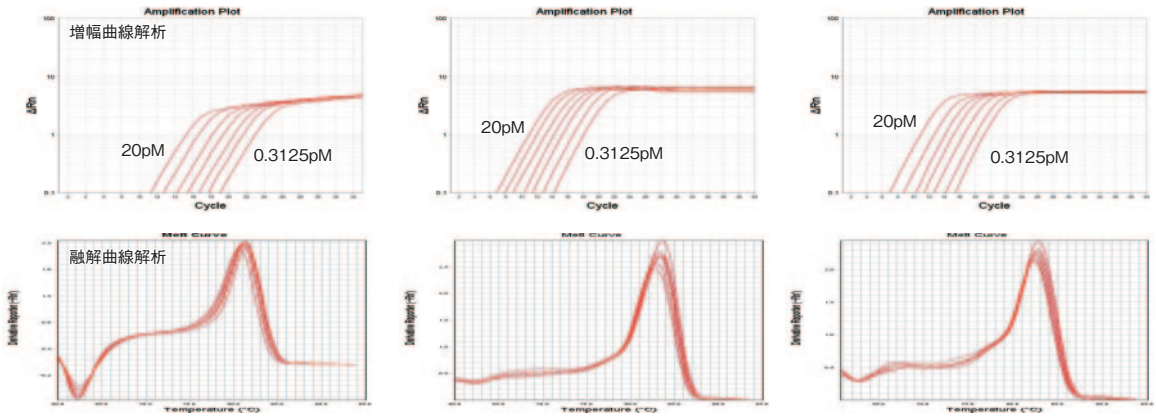
【使用機器】 Applied Biosystems® 7500 Fast

※比較のため、他のリアルタイムPCR試薬でも、取扱説明書推奨の条件にてリアルタイムPCRを実施し、比較を行いました。なお、リアルタイムPCR機種により最適ROX量が変わる可能性があります。取扱説明書をご参照ください。

結果および考察

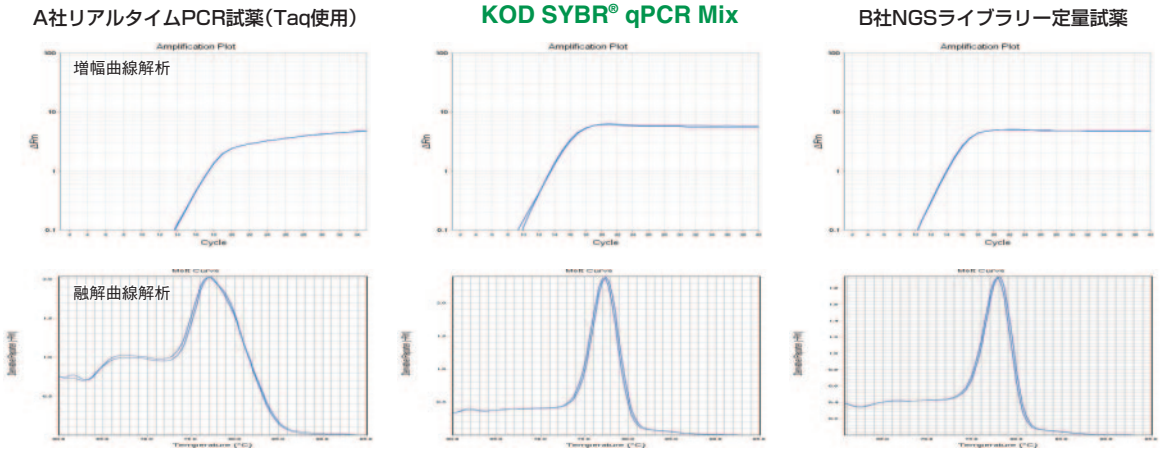
（1）段階希釈したスタンダードDNAを用いた解析結果

A社リアルタイムPCR試薬（Taq使用）　**KOD SYBR® qPCR Mix**　B社NGSライブラリー定量試薬



(2) RNA-seq 解析用ライブラリーを用いた解析結果

4pMに希釈したRNA-seq解析用ライブラリーA（平均長:約260bp）を用いて解析を行いました。



(3) ライブラリー濃度 定量結果

	ライブラリー濃度（nM）		
	A社リアルタイムPCR試薬（Taq使用）	KOD SYBR® qPCR Mix	B社NGSライブラリー定量試薬
A	2,736	629	600
B	5,028	548	518
C	195	44	51
D	2,174	575	579

RNA-seq解析用ライブラリーを市販のスタンダードDNAを指標として定量を行ったところ、KOD SYBR® qPCR Mixでは、B社ライブラリー定量試薬とほぼ同等の値を得ることができました。一方、A社リアルタイムPCR試薬では、ライブラリー濃度が一桁多く見積もられてしまいました。

ライブラリー定量では、通常のリアルタイムPCRのターゲット長（～200bp）に比べて必要な増幅長が平均260bpと長いため、Taqポリメラーゼを使用したリアルタイムPCR試薬では、非特異的増幅や立ち上がりの遅れにより、正しく定量できないケースがあるようです。

(4) 定量後のillumina®社シーケンサー解析結果

【使用機器】 illumina®社 MiSeq®

ライブラリーA

Read 1

Lane	Tiles	Dencity (K/mm2)	Cluster PF (%)	Phas/Prephas (%)	Reads (M)
1	38	1059+/-19	95.13+/-0.43	0.182 / 0.078	26.07

Read 2

Lane	Tiles	Dencity (K/mm2)	Cluster PF (%)	Phas/Prephas (%)	Reads (M)
1	38	1059+/-19	95.13+/-0.43	0.186 / 0.073	26.07

ライブラリーB

Read 1

Lane	Tiles	Dencity (K/mm2)	Cluster PF (%)	Phas/Prephas (%)	Reads (M)
1	38	1157+/-33	93.89+/-0.73	0.161 / 0.092	28.32

Read 2

Lane	Tiles	Dencity (K/mm2)	Cluster PF (%)	Phas/Prephas (%)	Reads (M)
1	38	1157+/-33	93.89+/-0.73	0.154 / 0.071	28.32

KOD SYBR® qPCR Mixを用いて見積もられた濃度をもとにライブラリー濃度が最適となるように希釈し、ライブラリーAとBにてシーケンス解析を実施しました。その結果、NGS解析で重要となるDensity、Cluster PFともに推奨範囲内（800～1300k/mm^2, 80%以上）であり、適切にライブラリーを定量できたと考えられました。

まとめ

本事例でお示ししたように、KOD SYBR® qPCR Mixを使用することで、市販のNGSライブラリー定量試薬と同等の正確なライブラリーの定量が可能です。また、KOD SYBR® qPCR Mixは、コストパフォーマンスに優れ、GC含量が高いターゲットや長鎖ターゲットでも増幅可能であるため、ライブラリー定量以外にも様々な用途に応用可能であると考えられます。是非一度、KOD SYBR® qPCR Mixをお試しください。

品名および内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
KOD SYBR® qPCR Mix ・KOD SYBR® qPCR Mix ・50×ROX reference dye	1ml×1本〔40回用〕	-20℃	QKD-201T	¥9,800
	1.67ml×3本〔200回用〕	-20℃	QKD-201	¥32,000
	（1.67ml×3本）×5〔1,000回用〕	-20℃	QKD-201X5	¥147,000

※50×ROX reference dyeがマスターミックスとは、別添付されています。
※包装欄に記載の反応回数は、50μl反応時のものです。容量は、KOD SYBR® qPCR Mixのみ示しています。

*SYBR およびApplied Biosystems は、Life Technologies Corporationの登録商標です。illumina, MiSeq およびTruSeq は、illumina, Inc.の登録商標です。

「KOD FX Neo」を用いた短鎖および長鎖ターゲットのマルチプレックスPCRによる検出例

東洋紡（株）　敦賀バイオ研究所　新井 康広

はじめに

マルチプレックスPCRとは、1回の反応で複数のターゲットを増幅するPCRです。マルチプレックスPCRは、試薬、機材や時間を節約することができ、複数のPCR産物を同時に検出することができるというメリットがあります。

しかしながら、マルチプレックスPCRでは、非特異増幅やプライマーダイマーが発生しやすくなる、また各ターゲットの増幅効率に隔たりが出やすいといった問題点が存在します。これらの問題点を解決するために、バッファー組成やプライマー配列を最適化する必要があり時間を要します。

KOD FX Neoは長鎖ターゲットの増幅に強く、成功率が高いという利点を有しています。さらに、クルード成分の阻害に強いといった特長を有しています。今回はKOD FX Neoの特長を生かして、短鎖および長鎖のターゲットに対して精製・クルードサンプルからのマルチプレックスPCRを行った例をご紹介いたします。

精製サンプルからのマルチプレックスPCR増幅

KOD FX Neoを使用してマルチプレックスPCRを実施しました。マルチプレックスPCRとして、一般的に行われている1kb以下の短鎖マルチプレックスPCRだけでなく、KOD FX Neoの高い伸長性と増幅効率を生かして1kb～10kbと比較的長い長鎖の広い範囲でのマルチプレックスPCRについて評価を行いました。

方　法

短鎖マルチプレックスPCR

DMD/BMD遺伝子増幅用のプライマー[*1]を用いて短鎖マルチプレックスPCRを行いました。KOD FX Neoを使用し、以下に示す反応組成とPCRサイクルで実施しました。他のPCR試薬については取扱説明書推奨の条件にてPCRを実施し、比較を行いました。

＊1：Alan H.Beggs *et al*., *Human Genetics*, **1990**, *86*, 45-48

短鎖ターゲット（増幅長）
PmF（535bp）, Exon3（410bp）, Exon6（202bp）, Exon13（238bp）, Exon43（357bp）, Exon47（181bp）, Exon49（439bp）, Exon50（271bp）, Exon60（139bp）

長鎖マルチプレックスPCR

長鎖マルチプレックスPCRでは以下に示される1kb～10kbの増幅長のターゲットについてPCRを行いました。KOD FX Neoを使用し、以下に示す反応組成とPCRサイクルで実施しました。他のPCR試薬については取扱説明書推奨の条件にてPCRを実施し、比較を行いました。

長鎖ターゲット（増幅長）
Chrome9（1kb）, MSH6（1.8kb）, BRCA2（2.25kb）, WT-1（2.5kb）, FANCE（3kb）, RAD51D（4kb）, KRAS（5kb）, BRCA1（7kb）, DDB2（10kb）

【反応組成】

DW	7 μl
2xBuffer for KOD FX Neo	25 μl
2mM dNTPs	10 μl
Primer mix(各primer：2.5 pmol/μl)	6 μl
50 ng/μl Human genomic DNA	1 μl
KOD FX Neo	1 μl
total	50 μl

【PCRサイクル】

短鎖マルチプレックスPCR

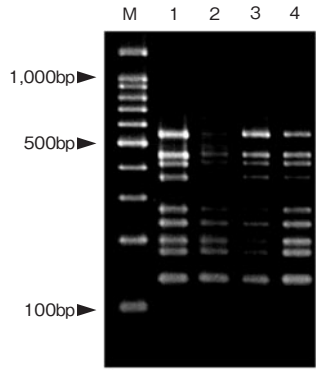
98℃,　2min.
↓
98℃,　10sec.
60℃,　30sec.　} 30 cycles
68℃,　1min.
↓
4℃

長鎖マルチプレックスPCR

98℃,　2min.
↓
98℃,　10sec.
68℃,　10min.　} 30 cycles
↓
4℃

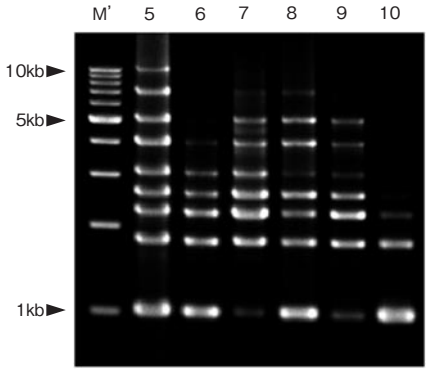
結果および考察

短鎖マルチプレックスPCR



M 100bp Ladder
1 KOD FX Neo
2 A社 Taq系PCR試薬
3 B社 高正確性PCR試薬
4 B社 Multiplex PCR試薬

長鎖マルチプレックスPCR



M' 1kb Ladder
5 KOD FX Neo
6 A社 Taq系PCR試薬
7 B社 Long Range PCR 試薬
8 B社 高正確性PCR試薬
9 C社 高正確性PCR試薬
10 B社 Multiplex PCR試薬

短鎖マルチプレックスPCRにおいて、KOD FX Neoが最も均一な増幅を示しました。また、長鎖マルチプレックスPCRでは、KOD FX Neoのみ他のポリメラーゼで増幅が困難であった7kbと10kbのターゲットを含むすべてのターゲットの増幅が確認できました。以上の結果より、KOD FX Neoは短鎖から長鎖までの幅広い範囲においてマルチプレックスPCRに適用することが可能であると考えられます。

クルードサンプルからのマルチプレックスPCR増幅

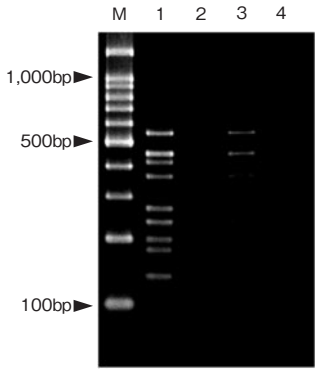
KOD FX Neoはクルード成分の阻害を受けにくい特長を持っています。そこで、この特長を生かして血液サンプルからマルチプレックスPCRによる増幅を実施しました。

方　法

反応組成とPCRサイクルは前述の短鎖および長鎖マルチプレックスPCRと同条件で行い、50ng/μl Human genomic DNAの代わりに血液2.5μlをテンプレートとしてPCR増幅を行いました。

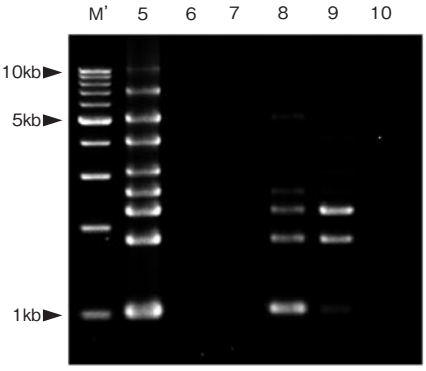
結果および考察

短鎖マルチプレックスPCR（クルードサンプル）



M 100bp Ladder
1 KOD FX Neo
2 A社 Taq系PCR試薬
3 B社 高正確性PCR試薬
4 B社 Multiplex PCR試薬

長鎖マルチプレックスPCR（クルードサンプル）



M' 1kb Ladder
5 KOD FX Neo
6 A社 Taq系PCR試薬
7 B社 Long Range PCR 試薬
8 B社 高正確性PCR試薬
9 C社 高正確性PCR試薬
10 B社 Multiplex PCR試薬

KOD FX Neoは血液サンプルからの増幅においても、短鎖および長鎖マルチプレックスPCRの両方で全てのターゲットの増幅が確認されました。KOD FX Neoを用いることで、血液などのクルードサンプルから前処理なしで直接マルチプレックスPCRが可能となることから、今まで煩雑だった様々な解析を効率化できる可能性があります。

まとめ

今回の検討において、KOD FX Neoを用いるマルチプレックスPCRにおける有用性が示されました。KOD FX Neoは正確性が高いという利点もあるため、増幅の有無やサイズの確認の他に、増幅産物を用いた様々な解析に応用可能であると考えられます。マルチプレックスPCRを行う際、是非一度、KOD FX Neoをお試しください。

品名および内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
KOD FX Neo KOD FX Neo（1.0U/μl） 2×PCR Buffer for KOD FX Neo 2mM dNTP	200U×1本[200回用]*	-20℃	KFX-201	￥35,000
	(200U×1本)×5[1,000回用]*	-20℃	KFX-201X5	￥140,000
	(200U×1本)×10[2,000回用]*	-20℃	KFX-201X10	￥260,000

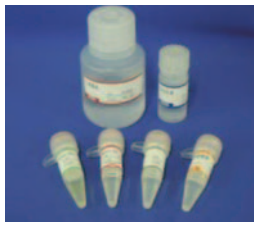
*包装欄に記載の反応回数は、50μl反応時のものです。

ノロウイルス検出キット

NEW

検便検体からノロウイルスを1-step RT-PCR法で融解曲線解析により検出するキットです。

ノロウイルス検出キットは、急性胃腸炎を引き起こす食中毒の原因として知られているノロウイルスを検便検体から1-step RT-PCR法で増幅し、EvaGreen®蛍光色素を用いる融解曲線解析により検出するキットです。弊社の高性能逆転写酵素ReverTra Ace®とrTaq DNA Polymeraseを組み合わせ、バッファーを最適化することによって高効率な1-step RT-PCRを実現しました。2-step RT-PCR法と同等の感度を保ちつつ、短時間（約2時間30分）で作業を終了できます。

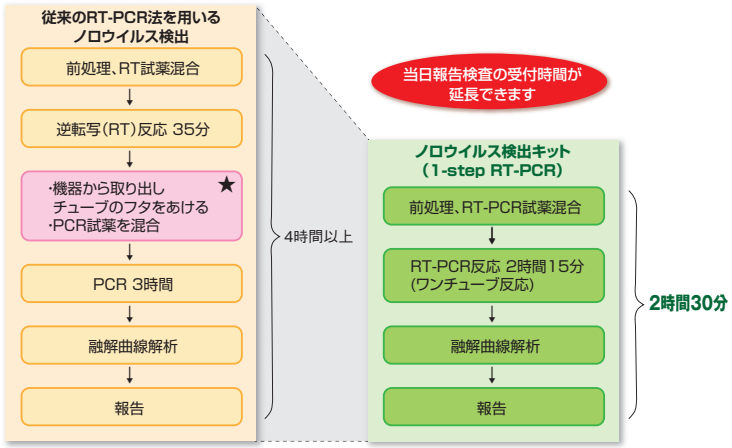


特長1 簡便

・1-step RT-PCR法を採用しているため、逆転写(RT)反応終了後にPCR試薬を混合する作業は不要です。

特長2 迅速

・タッチダウンサイクルの採用により、高い感度と特異性を維持しつつ、さらなる解析時間の短縮が可能になりました。
リアルタイムPCR装置に反応液をセットしてから約2時間30分で結果を確認することが可能であり、当日報告検査の受付時間を延長することができます。



★弊社のキットではこの作業が不要になります。

特長3 必要な試薬をすべて添付

・本製品には解析に必要なすべての試薬が含まれています。融解曲線解析に使用するインターカレーション蛍光色素EvaGreen®もキットに含まれています。

特長4 核酸抽出精製不要

・弊社独自技術で核酸抽出精製不要のPCRを実現しました。検便検体は反応阻害物質を分解する成分を含む専用の懸濁液※に懸濁します。その後、遠心分離上清を専用の前処理液に加え、85℃1分間の加熱処理をするだけでRT-PCRに使用できます。

※特許出願中

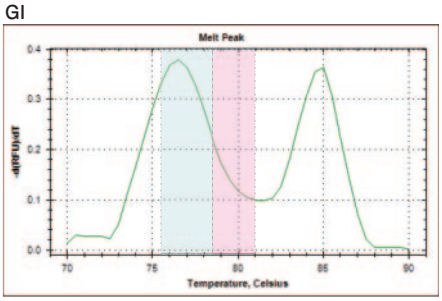
特長5 従来法と同等の感度で検出可能

・50コピー／テストまで検出可能です。1-step RT-PCRにおいても、従来法と同等の検出感度を実現しました。

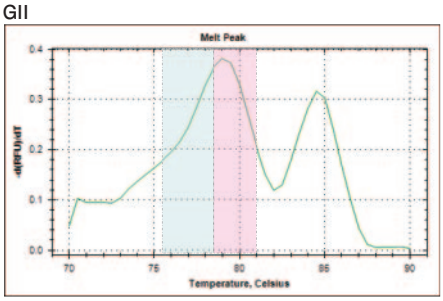
特長6 3種類のキットから選択

・GⅠ、GⅡ、GⅠ/GⅡ同時検出の3タイプの製品をご用意しております。検査のご要望にあわせてお選びください。3タイプいずれも共通の作業手順です。また、温度サイクル条件も共通に設定されていることから、1台のPCR機器で同時に複数のタイプの検査が可能となり、さらに作業の効率化を行うことができます。GⅠ陽性のピークは75.5℃～78.5℃（下図水色領域）に、GⅡ陽性のピークは78.5℃～81.0℃（下図桃色領域）に現れます。

GI



GII



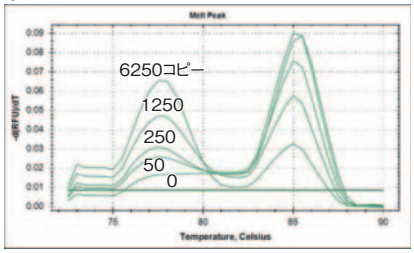
水色:GI 陽性領域

桃色:GII 陽性領域

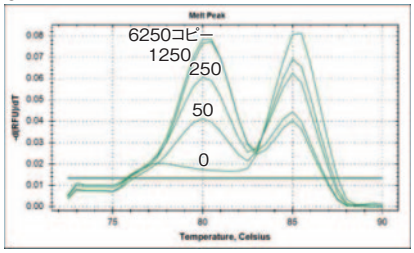
実施例1 検出限界コピー数の検討

ノロウイルス検出キットG1（Code No. FIK-201）、およびノロウイルス検出キットG2（Code No. FIK-202）を用いて、表示のコピー数のGⅠまたはGⅡRNAを前処理済み陰性糞便に添加したものをサンプルとして1-step RT-PCRを行った後、融解曲線解析により検出した結果を示します。いずれのタイプのRNAも50コピーまで検出可能でした。

GI



GII



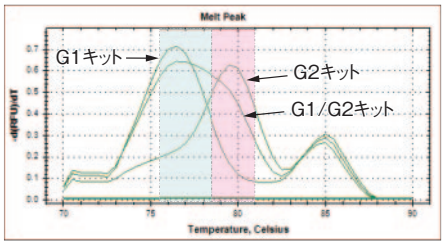
【使用機器】
Bio-Rad® MiniOpticon™

実施例2 GI・GII 共感染検体からの分離検出の検討

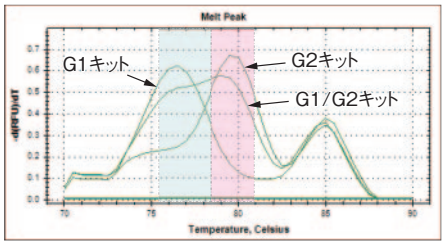
ノロウイルスの感染例において、まれにGⅠ・GⅡ両タイプが検出された例が報告されています。そこで本キットにおけるGⅠ・GⅡ共感染検体の検出について検討しました。GⅠ・GⅡのRNAを5,000:500、500:500、500:5,000となるように混合した前処理済み陰性糞便に添加した検体を用い、ノロウイルス検出キットG1（Code No.FIK-201）、ノロウイルス検出キットG2（Code No.FIK-202）、ノロウイルス検出キットG1/G2（Code No.FIK-203）を用いて検出を行いました。

その結果、GⅠおよびGⅡ単独検出キットを使用した検出例（下図G1キット、G2キット）では、RNAの量比に影響されず明確なピークシグナルが得られました。一方GⅠ、GⅡ同時検出キット（下図G1/G2キット）では、全てGⅠまたはGⅡのいずれかで陽性として検出できているものの、GⅠとGⅡの両方が陽性であるという判定はできませんでした。以上より遺伝子型の特定が必要な場合は、1. 単独検出キット（Code No.FIK-201、202）で検査する、2. 同時検出キット（Code No.FIK-203）で陽性と判定された検体を単独検出キットで型判定する方法で行ってください。なお、遺伝子型の特定が不要な場合は、同時検出キット(Code No.FIK-203)をご利用いただけます。

①GI:GII 5000:500



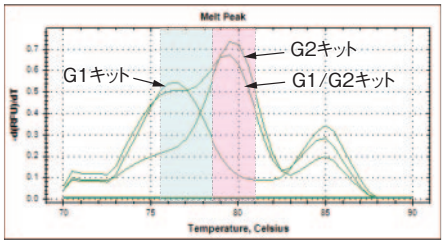
②500:500



水色:GI 陽性領域

桃色:GII 陽性領域

③500:5000



【使用機器】 Bio-Rad® MiniOpticon™

品名および内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
ノロウイルス検出キット G1 ・懸濁液　・前処理液　・反応液　・酵素液　・プライマー液（G1） ・EvaGreen® dye, 20X in water	100回用	-20℃	FIK-201	¥75,000
ノロウイルス検出キット G2 ・懸濁液　・前処理液　・反応液　・酵素液　・プライマー液（G2） ・EvaGreen® dye, 20X in water	100回用	-20℃	FIK-202	¥75,000
ノロウイルス検出キット G1/G2 ・懸濁液　・前処理液　・反応液　・酵素液　・プライマー液（G1/G2） ・EvaGreen® dye, 20X in water	100回用	-20℃	FIK-203	¥80,000

※本キットの検便検体以外への適用は別途お問合せください。

*EvaGreen は、Biotium, Inc.の登録商標です。Bio-Rad およびMiniOpticon は、Bio-Rad Laboratories, Inc.の登録商標または商標です。

解析ソフトウェアについて

融解曲線データから陽性または陰性を判定するソフトウェアをご用意しております。製品購入の方に無償で提供いたします。詳しくは下記の東洋紡テクニカルラインまでお問合せください。

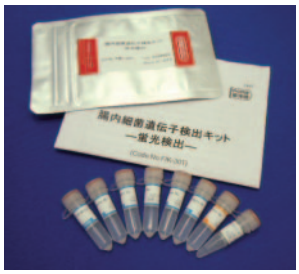
東洋紡テクニカルライン Tel. 06-6348-3888 (9:00～12:00／13:00～17:00) [土、日、祝を除く]
tech_osaka@toyobo.jp

腸内細菌遺伝子検出キットー蛍光検出ー

NEW

検便検体から食中毒原因菌をマルチプレックスPCR法で、融解曲線解析により検出するキットです。

腸内細菌遺伝子検出キットー蛍光検出ーは、食中毒原因菌として知られるサルモネラ、腸管出血性大腸菌（EHEC）、赤痢菌の遺伝子を、マルチプレックスPCRにて増幅し、EvaGreen®蛍光色素を用いる融解曲線解析により検出するキットです。リアルタイムPCR装置を使用することで、PCRから蛍光検出までをチューブを開けることなく、1チューブで検出することが可能です。

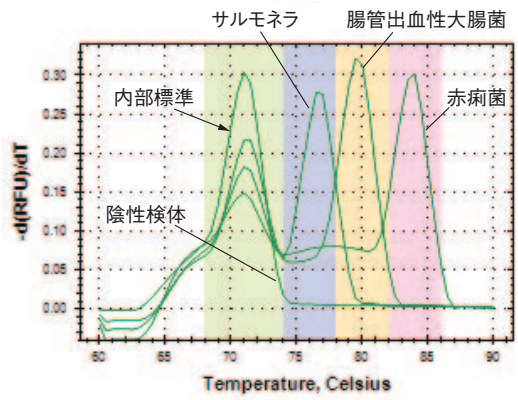


特長1 簡便

・サンプルの調製は検便懸濁液を加熱・遠心分離するだけです。
弊社独自技術で核酸精製不要のPCRを実現しました。検便検体を水に懸濁し、加熱処理と遠心分離を行ったものをPCRに使用します。面倒なDNA精製は必要ありません。

・リアルタイムPCR装置に反応液をセットするだけで、チューブを開けることなく、1チューブで検出することが可能です。

・菌の種類と存在を判別できます。マルチプレックスPCRにより、3菌種を一つの反応で検出します。それぞれの菌種で、検出されるピーク温度（Tm値）が異なります。融解曲線解析によりピーク温度を判定して、菌種を判別します。専用の判定ソフトを用いて陽性または陰性を判定するため、難しいコロニー判定の必要はありません。



陰性検体とサルモネラ、腸管出血性大腸菌O157、赤痢菌の陽性検体を、本キットを用いて解析したイメージです。融解曲線解析により、陽性検体の場合、図に示したような陽性ピークが検出され、陰性では、内部標準のピークのみが検出されます。

特長2 迅速

・弊社独自技術により、高い感度と特異性を維持しつつ、解析時間の短縮が可能になりました。リアルタイムPCR装置に反応液をセットしてから、約2時間15分で結果を確認することができます。

※解析時間は、リアルタイムPCR装置の種類によって若干異なります。

特長3 検便検体のスクリーニングに利用可

・本製品は、50検体からプールした糞便検体の腸内細菌を検出が可能な感度を有しているため、検便検査のスクリーニングに使用することができます。本製品によるスクリーニングを実施する利点として下記の3点が挙げられます。

1）検査当日に90～95%の陰性検体を判定できます。

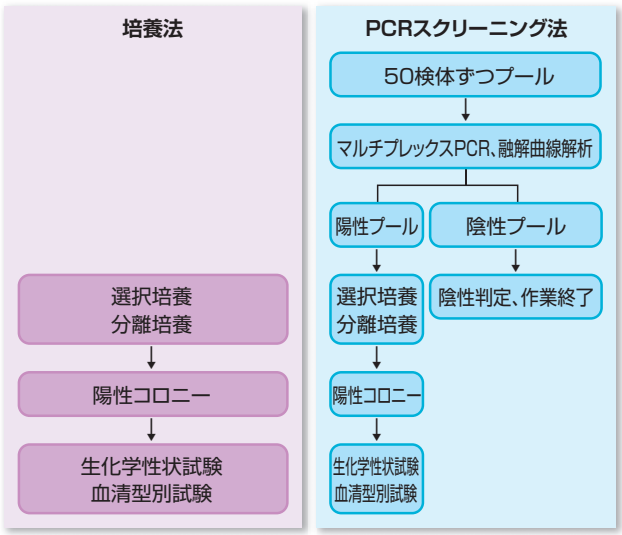
本製品での陰性率は90～95%です。スクリーニングは数時間で完了するため、検査当日に陰性を判定することができます。陽性となったプールに含まれる検体は、個別に培養法にて検査します。

2）塗沫培養の検体数を10分の1以下に低減できます。

培養に先立ち90～95%の陰性検体を排除できるため、培養を実施する検体数を全検体の約10分の1以下に低減できます。

3）判定が簡便です。

本製品では、ピークの検出により判定を行います。そのため、コロニーの色や形状による判定に比べ判定が簡便です。



特長4 必要な試薬をすべて添付

・本製品には、解析に必要なすべての試薬が含まれています。融解曲線解析に使用するインターカレーション蛍光色素EvaGreen®も含まれますので、本製品に含まれるすべての試薬を混合し、糞便熱処理液を添加するのみで解析が可能です。

※東洋紡は、米国Biotium Inc.とのライセンス契約のもとEvaGreen®をキットに使用しています。そのため、お客さまでのライセンス契約は必要ありません。

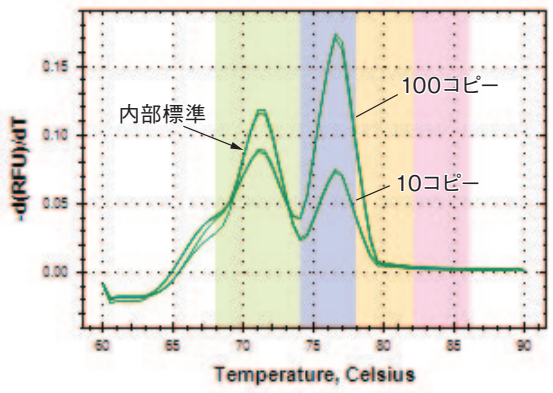
特長5 キャリーオーバー汚染のリスクを低減

・偽陽性の発生原因として、キャリーオーバー汚染があります。本製品は、PCRから蛍光検出までをチューブを開けることなく、1チューブで検出することができるため、キャリーオーバーのリスクが低減しています。さらに、本製品は、混入した増幅産物を分解することが可能なUracil-DNA Glycosylaseを含むため、10^3～10^4コピー/反応程度の混入したPCR増幅産物を分解し偽陽性を防止することが可能です。

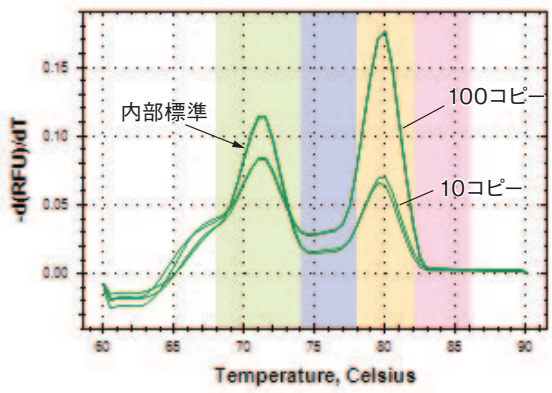
実施例 検出感度の確認

サルモネラゲノムDNA、腸管出血性大腸菌ゲノムDNA、赤痢菌ゲノムDNAをそれぞれ100コピー、10コピー/反応になるように陰性糞便の熱処理液に添加したものをサンプルとして、本製品を用いてPCRを行った後、融解曲線解析により検出を行いました。解析にはBio-Rad® MiniOpticon™を用いました。その結果、いずれの遺伝子も100コピー、10コピーにおいて明確なピークが認められました。また、陰性糞便の場合は、内部標準（インターナルコントロール）のピークのみが検出され、陰性と判定されました。

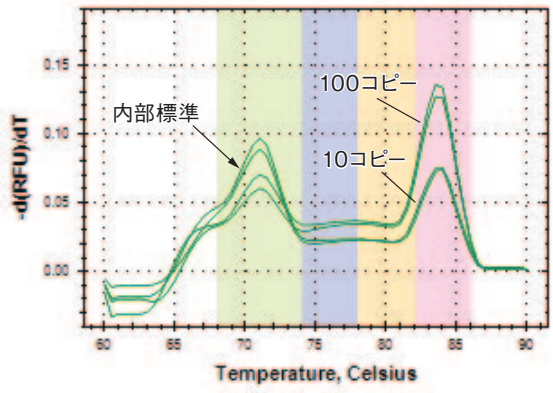
サルモネラ



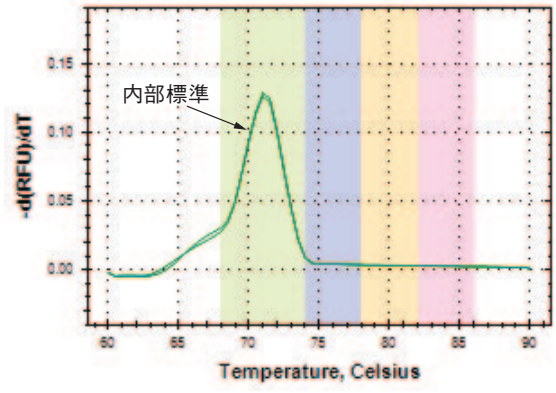
腸管出血性大腸菌



赤痢菌



陰性検体



品名および内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
腸内細菌遺伝子検出キット-蛍光検出- ・PCR Master Mix ・10×Primer Mix ・UNG（Uracil-DNA Glycosylase）	480回用※	-20℃	FIK-301	￥240,000

※PCR 480回分、50検体プール時検便検体24,000検体を処理可能です。

*EvaGreen は、Biotium, Inc.の登録商標です。Bio-Rad およびMiniOpticon は、Bio-Rad Laboratories, Inc.の登録商標または商標です。

Q & A

リアルタイムPCR用細胞溶解&cDNA合成キット（培養細胞用）

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR

Q1 どのような細胞で使用できますか?

A1 下表の代表的な哺乳類株化細胞といくつかの初代細胞について適用できることを確認しています。

表. 本製品の適用確認済み細胞

	細胞名	接着／浮遊	種	細胞	由来
1	A431	接着	*H.sapiens*	epidermoid carcinoma cell line	上皮様細胞がん
2	C_2C_{12}	接着	*M. musculus*	myoblast cell line	筋芽細胞
3	Caco-2	接着	*H.sapiens*	colon adenocarcinoma cell line	大腸がん
4	CHO-K1	接着	*C. griseus*	ovary cell line	卵巣
5	COLO205	浮遊	*H.sapiens*	colon adenocarcinoma cell line	大腸がん
6	DLD-1	接着	*H.sapiens*	colon adenocarcinoma cell line	大腸がん
7	HCT-15	接着	*H.sapiens*	colon adenocarcinoma cell line	大腸がん
8	HDF	接着	*H.sapiens*	primary foreskin fibroblasts（primary cell）	皮膚線維芽細胞
9	HEK293	接着	*H.sapiens*	embryonic kidney cell line	胎児腎
10	HeLa S3	接着	*H.sapiens*	cervix carcinoma cell line	子宮頸がん
11	HepG2	接着	*H.sapiens*	hepatocellular carcinoma cell line	肝がん
12	HUVEC	接着	*H.sapiens*	umbilical vein endothelial cells（primary cell）	臍帯静脈内皮細胞
13	Jurkat	浮遊	*H.sapiens*	T lymphocyte cell line	白血病T細胞
14	K562	浮遊	*H.sapiens*	myelogenous leukemia cell line	赤芽球様白血病細胞
15	KUSA-A1	接着	*M. musculus*	bone marrow stromal stem cell line	骨芽細胞様株
16	L929	接着	*M. musculus*	aneuploid fibrosarcoma cell line	結合組織
17	MCF7	接着	*H.sapiens*	breast adenocarcinoma cell line	乳腺がん
18	Neuro2a	接着	*M. musculus*	neuroblastoma cell line	神経芽細胞腫
19	NIH-3T3	接着	*M. musculus*	embryo fibroblast cell line	胎仔由来線維芽細胞
20	PC12	接着	*R. norvegicus*	adrenal pheochromocytoma cell line	副腎褐色細胞腫
21	rMSC	接着	*R. norvegicus*	bone marrow stromal stem cells（primary cell）	骨髄間質細胞
22	THP-1	浮遊	*H.sapiens*	acute monocytic leukemia cell line	単球
23	U937	浮遊	*H.sapiens*	leukemic monocyte lymphoma cell line	単球
24	RH	接着	*Sprague dawley*	hepatocyte（primary cell）	肝細胞

Q2 どのくらいの細胞数のサンプルが使用できますか?

A2 96ウェルプレート1ウェルで一般に1×10^1～7×10^4cellsの細胞サンプルを処理することが可能ですが、細胞の種類によって多少異なります。10^4cellsを目安としていただくか、予備実験で上限を確認いただくことをお薦めいたします。

Q3 gDNA RemoverとLysis Solutionの混合液の保存は可能ですか?

A3 gDNA RemoverとLysis Solutionの混合液は各ウェルに添加する直前に調製し、gDNA Removerを添加したLysis Solutionの保存は避けてください。

Q4 調製したライセートは氷上でどのくらい保存できますか?

A4 細胞の種類によってはRNaseの活性が強く、処理後もRNase活性が残存する可能性がありますので、速やかに逆転写（RT）反応を行い、cDNA化することをお薦めいたします。一時中断される場合は2時間以内を目安に逆転写反応を行ってください。

Q5 調製したライセートは逆転写反応にどのくらいの量まで使用できますか?

A5 20～40μl反応系にライセートを20%容量（40μlの場合、ライセート8μl）添加することをお薦めいたします。

Q6 調製したcDNAはqPCR反応にどのくらいの量まで使用できますか?

A6 調製したcDNAはqPCR反応系の10～15%容量を目安にご使用ください。化学修飾系ホットスタートqPCR試薬をご使用の場合、本製品の逆転写反応液の持込を最大10%を目安としてご使用ください。使用するqPCR試薬の性質によっては、この値は低下する可能性があります。逆転写反応液の添加量を減らしてご確認ください。

Q7 植物細胞・動物組織・微生物からcDNAを調製できますか?

A7 本品は哺乳類培養細胞用に開発されたキットです。植物や微生物、または動物組織などへは適用できません。

Q8 細胞溶解から逆転写反応の終了までどのくらい時間がかかりますか?

A8 細胞溶解に7分、逆転写反応に25分で、約30分かかります。（操作時間は含まれません。）

●TESTSKIN™、MATREX™販売終了のご案内

標記商品について、原料の調達が困難となっており、安定した品質の製品をご提供することができなくなると判断し、下記のスケジュールにて販売を終了させていただくことになりました。長らくご愛顧いただき、ありがとうございました。

品名および内容	Code No.	最終受注締日	最終出荷日
MATREX™ LDM	TMLDM-001	2015年 2月17日	2015年3月9日
TESTSKIN™ LSE-high 1週間培養	TMLSE-013	2015年 2月17日	2015年3月9日
TESTSKIN™ LSE-high 1週間培養 + A/L培養セット	TMLSE-013A	2015年 2月17日	2015年3月9日
TESTSKIN™ LSE-high	TMLSE-003	2015年 2月17日	2015年3月16日
TESTSKIN™ LSE-high + A/L培養セット	TMLSE-003A	2015年 2月17日	2015年3月16日

詳細につきましては、弊社ウェブページのお知らせをご覧ください。
http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/lifescience/info/index.html

●クロスワードパズルについてのお詫び

弊社情報誌UPLOAD Vol.101のバイオ・クロスワードパズル ～バイオ実験手法編～の設問に誤りがございました。ご覧いただいた方々に大変ご迷惑をおかけしましたことを深くお詫び申し上げます。

詳細につきましては、弊社ウェブページのお知らせをご覧ください。
http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/lifescience/info/index.html

●ノロウイルス検出キット、腸内細菌遺伝子検出キット -蛍光検出- のLabel Licenseについて

Label License Statement

NOTICE TO PURCHASER： LIMITED LICENSE

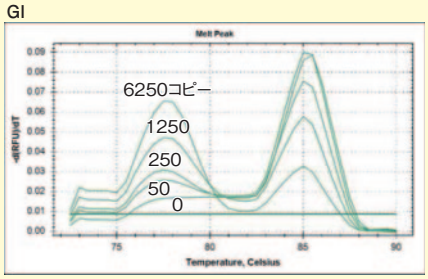
This product is provided under an Agreement between Biotium and TOYOBO. The manufacture, use, sale, offer for sale, or import of this product is subject to one or more patents or pending applications owned or licensed by Biotium, Inc. (U.S. Patent Nos. US7,803,943 B2, US7,776, 567 B2, Japan Patent No. 5249013). The purchase price of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under U.S. Patent Nos. US7,803,943 B2, US7,776, 567 B2, Japan Patent No. 5249013 and corresponding patent claims outside of the United States, to use only the purchased amount of the product and components of the product solely for the buyer' s own internal research (whether the buyer is an academic or for-profit entity), in a manner consistent with the accompanying product literature. No right to use, sell or otherwise transfer (a) this product (b) its components or (c) materials made using this product or its components to a third party, or otherwise use this product or its components or materials made using this product or its components for any other purpose or a Commercial Purpose, is hereby granted expressly, by implication or by estoppel. Commercial Purpose means any activity by a party for consideration and include, but is not limited to: (1) use of the product or its components in manufacturing; (2) use of the product or its components to provide a service including without limitation, reporting information or data resulting from use of the product or a its components for a fee or other commercial consideration; (3) use of the product or its components for therapeutic, diagnostic or prophylactic purposes; or (4) resale of the product or its components, whether or not such product or its components are resold for use in research. For products that are subject to multiple limited use label licenses, the most restrictive terms apply. This product is for research use only. Diagnostic uses require a separate license from Biotium, Inc. For information on purchasing a license to this product including for purposes other than research, contact Director of Licensing, Biotium, Inc., 3159 Corporate Place, Hayward, CA 94545, Tel: +1-(510) 265-1027. Fax: +1-(510) 265-1352. Email:btinfo@biotium.com. All names containing the designation® are trademarks of Biotium.

ノロウイルス検出キット

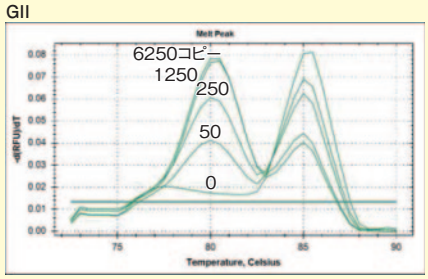
簡便 迅速

食中毒の原因として知られているノロウイルスを、検便検体から1-step RT-PCR法で増幅し、EvaGreen®蛍光色素を用いる融解曲線解析により検出する試薬です。当社の技術により面倒な核酸抽出処理を行う必要がなく、短時間で解析が可能です。検出に必要な試薬はすべてキットに含まれているため、簡便、迅速に判定できます。

GI



GII



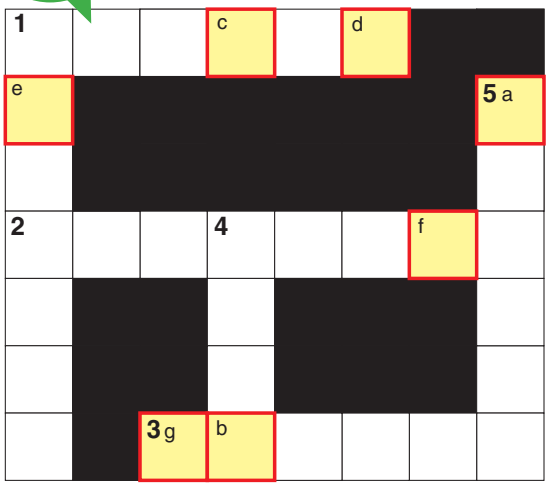
ノロウイルス検出キットG1（Code No. FIK-201）、およびノロウイルス検出キットG2（Code No. FIK-202）を用いて、表示のコピー数のGIまたはGII RNAを前処理済み陰性糞便に添加した場合の検出結果を示します。いずれのタイプのRNAも50コピーまで検出可能でした。

⇒本誌p.9・10に詳細記事がございます

アルファベットを入れてください

バイオ・クロスワードパズル ～バイオ実験手法編～

プレゼント付き



運動会のお弁当といえば、

a	b	c	d	e	f	g

ヨコのカギ

1. タンパク質に翻訳される開始コドンと終止コドンに挟まれたmRNAあるいはその鋳型となるDNAの領域を _____sequence（CDS）と呼びます。
2. 染色体の末端にある、一定の配列からなる繰り返し配列です。染色体の安定化に働いているとされ、細胞分裂とともに短縮することが知られています。
3. 転写されますがスプライシング反応で除去される配列です。

タテのカギ

1. 一つのタンパク質をコードする遺伝子の領域を言いましたが、現在では、一つの転写開始点と終結点を持つ（mRNAとなる）遺伝子領域を専ら指します。複数のタンパク質をコードしていることもあります。
4. 遺伝子の塩基配列のうちタンパク質に翻訳されうる領域であり、開始コドンから始まりストップコドンに邪魔されない一定の長さの塩基配列を言います。_____ Reading frame（ORF）。
5. 一つの転写因子によって同時に発現が制御される、複数の遺伝子からなる遺伝子上の領域です。フランソワ・ジャコブとジャック・モノーによってその存在が提唱されました。

【以下の選択肢の中から選んでください】

EXON　OPEN　ONLY　CLOSE　OPERON　CODING　INTRON
CISTRON　PROMOTER　READING　TELOMERE　REPRESSOR
HAPLOTYPE　SATELLITE　CENTROMERE

バイオクロスワードパズルの解答に加え、UPLOADのアンケート（下記クイズコーナーに記載）に
ご回答いただいた方から抽選で、10名様にノベルティグッズセット（クリアファイル・付箋・ボールペン 各1点）をご進呈いたします。

ご応募はこちらから　1 弊社ウェブページ（www.toyobo.co.jp/bio）　2 読者のコーナー　3 クイズコーナー

※ご応募期間 2014年9月2日～2014年11月30日

http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/lifescience/tech/reader/quiz/index.html

TOYOBO
Ideas & Chemistry

東洋紡株式会社

◆◆ 納期・注文に関するお問い合わせ ◆◆

ライフサイエンス事業部（大阪）
〒530-8230　大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
TEL.06-6348-3786　FAX.06-6348-3833
E-mail　order_lifescience@toyobo.jp

ライフサイエンス事業部（東京）
〒104-8345　東京都中央区京橋一丁目17番10号
住友商事京橋ビル
TEL.03-6887-8819　FAX.03-6887-8951
E-mail　order_lifescience@toyobo.jp

◆◆ 製品内容・技術に関するお問い合わせ ◆◆

テクニカルライン
TEL.06-6348-3888　FAX.06-6348-3833
開設時間：9:00～12:00　13:00～17:00
（土・日・祝を除く）
E-mail　tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

PCRは東洋紡

A5077K/2014/9/22,000/1